遺伝子多型選抜および生殖細胞機能賦活化の併用による優良形質ウシ生産技術の構築

宇都宮大学農学部・准教授　松本　浩道

■　目　的

体外受精によって作出した胚の産子生産率は極めて低い。ウシの体外受精卵移植において、受胎率は約40％(受胎数/移植数)、産子生産率は約22％(産子数/移植数)である。この値は移植数を分母にしているので、子宮への胚移植に用いるステージである胚盤胞への発生率が50％程度であることを考えると、実際の受胎率や産子生産率は非常な低率である。ウシの受精卵移植が始まって以来約20年が経過しているが、この値は改善できていない。これが改善されれば、優良家畜の増産において大きな前進を達成することになる。そこで本研究では、BRCA1遺伝子に着目して、遺伝子解析、体外受精卵の着床率改善、を検討するものである。

■　方　法

受胎率が改善されていない現状は新規の着床関連因子の解析の重要性を示す。一方で、家畜では体外受精等の発生工学技術に不適応な家系の存在が知られている。そこで我々は、着床関連因子の解析とその家系の同時解析が最短のアプローチであると着想するに至った。本研究では、breast cancer 1 (BRCA1)について、遺伝子解析、発生と着床能力獲得に関する分子機構の解析を行った。

ウシBRCA1遺伝子については、肉用牛であるヘレフォード種のクローニングが報告されているのみである。ヒトBRCA1は、家族性乳ガンに関与していることが知られている。そこで我々は、BRCA1がウシの乳房性疾患に関与していると仮説をたてた。乳房性疾患は乳用牛の生産において重要な問題であることから、代表的な乳用牛であるホルスタイン種におけるBRCA1遺伝子の塩基配列解析を行った。

体外受精卵を発生させ着床を検討するには、最初からウシを用いるのは得策ではない。よってマウス胚におけるBrca1の発現解析を行った。特に、胚盤胞におけるBrca1タンパク質の発現動態を免疫蛍光染色法で解析し、着床する部位である栄養外胚葉への局在性を検討した。

■　結果および考察

ヘレフォード種では、エクソン11において111塩基の挿入の有無が、BRCA1遺伝子の転写を制御するリン酸化に関わっていることが報告されている。ホルスタイン種におけるBRCA1遺伝子の塩基配列解析を行った結果、エクソン11は、ヘレフォード種と同一の配列であった。一方で、111bp挿入は認められなかった。

Brca1タンパク質は、胚盤胞において子宮内膜に着床する部位である栄養外胚葉に発現していた。この発現は、着床を誘起された胚で上昇していた。一方で、体外で生産された胚におけるBrca1タンパク質は栄養外胚葉に発現しており、局在性は体内で発生した胚盤胞と差が認められないものの、低い発現レベルを示した。このことから、体外生産胚の低い着床率に、Brca1タンパク質の発現動態が関与している可能性が示唆された。また、Brca1発現の低い体外生産胚におけるプロラクチンの効果を検討した。その結果、胚盤胞を培養する際、プロラクチンの添加により、Brca1発現を促進させる結果が示された。

■　結　語

ウシBRCA1の遺伝子解析の結果、その塩基配列は保存性が高い一方で、乳用牛特異的な配列をもつ可能性が示唆された。今後例数を重ね多型解析の実施に展開させることでその有用性の検討が期待される。また、体外生産胚の低い着床率に、Brca1タンパク質の発現動態が関与していること、プロラクチンが着床後の胚発生を改善できる可能性が示唆された。

注：遺伝子名は、ヒトおよびウシではBRCA1、マウスではBrca1、と表記している。